

DELPHION

RESEARCHPRODUCTSINSIDE DELPHION

Log OutWork FilesSaved SearchesMy Account

SearchQuick NumberBooleanAdvancedDerwent

Tracking: No active trail

Select LRAccess History

Derwent Record

Email this to

View: Expand DetailsGo to: Delphion Integrated ViewTools: Add to Work FileCreate new Work File

Derwent Title: Absorptive collagen sponge prodn - from swelled collagen and resin suspensions by hardening

Original Title: DE2319852A1: Verfahren zur Herstellung einer zur Aufnahme von Arzneimitteln geeigneten, saugfaehigen Fasermasse aus Protein, insbesondere aus Kollagen

Assignee: BIOLOGICAL CONCEPTS INC Non-standard company

Inventor: None

Accession/Update: 1973-69502U / 197346

IPC Code: A61K 17/00 ; A61K 47/00 ;

Derwent Classes: A96; B04; F04;

Manual Codes: A03-C01(Proteinaceous polymers) , A03-C02(Natural resins or gums, rosin (abietic acid), lignin) , A07-B(Aqueous dispersions and latexes [general]) , A11-C02(Crosslinking, curing, vulcanisation) , A12-V01 (Medicines, pharmaceuticals) , B04-B04A(Proteins, nucleic acids, cells general\*) , B04-C03(Polymers [general]) , F02-C02(Methods of manufacture of non-woven fabrics; machinery, general) , F04-E04 (Surgical and medical fabric products)

Derwent Abstract: ( DE2319852A) Process for an absorptive fibrous mass from protein esp. collagen as medicament carrier comprises prepg. a dispersion of swelled protein-fibres in an aq. soln. or suspension of natural or synthetic resin, then adding a tanning- or cross-linking agent and hardening the mass at a temp. above the m.pt. of the soln. or suspension. The process avoids freeze-drying, and allows a medicament content >10wt.% of dry substance. The prefd. resin is gum-arabic.

Family: 

| PDF | Patent       | Pub. Date  | Derwent Update | Pages | Language | IPC Code  |
|-----|--------------|------------|----------------|-------|----------|-----------|
|     | DE2319852A * |            | 197346         |       | German   | A61K 9/20 |
|     | FR2247258A ≡ | 1975-06-13 | 197529         |       | French   | A61K 9/20 |

INPADOC Legal Status: None

First Claim: 

Show all claims

1. Verfahren zur Herstellung einer zur Aufnahme von Arzneimitteln geeigneten, saugfaehigen Fasermasse aus Protein, insbesondere aus Kollagen, dadurch gekennzeichnet, dass zuerst eine Dispersion aus gequollenen Proteinfasern in einer waessrigen Loesung oder Suspension von von natuerlichem oder synthetischem Harz hergestellt und dieser dann ein Gerb- oder Vernetzungsmittel zugegeben wird, wonach die Fasermasse bei einer Temperatur oberhalb des Gefrierpunkts der Loesung oder Suspension ausgehaertet und anschliessend das ueberschuessige Wasser aus dem Gemisch entfernt wird.

Priority Number: 

| Application Number | Filed      | Original Title |
|--------------------|------------|----------------|
| US1972000246359    | 1972-04-21 |                |

Chemical

Indexing Codes:

Polymer

Multipunch Codes:

Title Terms:

Pricing

Current charges

[Show chemical indexing codes](#)

[Show polymer multipunch codes](#)

ABSORB COLLAGEN SPONGE PRODUCE SWELLING COLLAGEN RESIN  
SUSPENSION HARDEN

**Derwent Searches:**

[Boolean](#) | [Accession/Number](#) | [Advanced](#)

Data copyright Thomson Derwent 2003

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

**2 247 258**

(A n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction).

A1

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

(21)

N° **73 14573**

(54) Procédé de fabrication d'une matière absorbante protéinique à fibrilles analogue à une éponge.

(51) Classification internationale (Int. Cl.<sup>2</sup>). A 61 K 47/00.

(22) Date de dépôt ..... 20 avril 1973, à 14 h 47 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : *Demande de brevet déposée aux États-Unis d'Amérique le 21 avril 1972, n. 246.359 aux noms de Harry W. Rudel et Fred A. Kincl.*

(41) Date de la mise à la disposition du public de la demande ..... B.O.P.I. — «Listes» n. 19 du 9-5-1975.

(71) Déposant : Société dite : BIOLOGICAL CONCEPTS, INC., résidant aux États-Unis d'Amérique.

(72) Invention de : Harry W. Rudel et Fred A. Kincl.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Madeuf, Ingénieurs-Conseils.

La présente invention concerne un procédé de fabrication de matières absorbantes à fibrilles jouant le rôle de matrice et de combinaisons ou complexes de ces matières à fibrilles jouant le rôle de matrice avec des médicaments destinés à des fins d'introduction dans les organismes vivants.

Les éponges absorbantes fabriquées à partir de collagène ou de gélatine sont d'un usage étendu en chirurgie. Ces éponges ont l'avantage par rapport aux autres matières absorbantes comme la cellulose ou le coton, qu'elles peuvent être laissées dans les cavités corporelles, si on le désire, car elles sont en elle-mêmes absorbables et non antigéniques.

La préparation des éponges collagènes absorbantes est connue dans la technique. D'une façon typique, une éponge collagène est préparée par congélation de fibrilles de collagène gonflé, traité à l'acide, suivie par la déshydratation avec des solvants organiques, comme décrit, par exemple, dans les brevets américains n° 3 157 524 et 3 368 911 ou par la lyophilisation, comme décrit, par exemple dans le brevet anglais n° 1 056 007. La préparation d'éponges absorbantes à partir de solutions aqueuses de gélatine accompagnée d'une lyophilisation, est mentionnée, par exemple, dans le brevet américain n° 2 166 074.

Le collagène est connu comme réagissant avec de nombreux produits pharmaceutiques solubles dans l'eau avec formation d'un complexe produit pharmaceutique-collagène. Dans certains cas, l'objectif est d'obtenir des complexes caractérisés par une action prolongée ou un dégagement lent du médicament comme un agent immunologique ou une vitamine dans des préparations appropriées pour l'administration parentérale. Quand un complexe de ce type est administré à un organisme vivant par voie parentérale, l'action pharmacologique du produit pharmaceutique est notablement prolongée comparativement à l'effet produit par l'administration du même produit pharmaceutique à la même dose par lui seul.

Le collagène est la protéine fibreuse des tissus conjonctifs formant presque 30% des protéines corporelles. Une de ses principales fonctions dans le corps à côté de sa fonction de support physique est d'agir comme un échangeur d'ions fixant les électrolytes, les produits pharmaceutiques et les

agents métabolisants. Ainsi, il est connu que le collagène fixe dans les tissus des substances telles que des antibiotiques comme la tétracycline, des agents anti-rhumatisme et divers métaux comme l'argent, le cuivre, le fer et le mercure. L'interaction des protéines du collagène avec des substances comme l'héparine ou les glycoprotéines est bien connue. Le caractère de cette liaison est principalement ionique.

Il est bien connu de fixer des produits pharmaceutiques solubles dans un milieu aqueux à du collagène par dispersion à travers une matrice de fibrilles de collagène qui sont ensuite tannées pour conférer des propriétés de dégagement lent et un procédé de ce type est indiqué dans les brevets américains n° 3 435 110 et 3 435 117.

La préparation de substances pharmaceutiques à fibrilles de collagène jouant le rôle de matrice, conçues pour l'administration par voie orale, est décrite dans le brevet américain n° 3 435 110. L'emploi de collagène pour préparer des suspensions stables homogènes huile dans l'eau ou émulsions, est indiqué dans le brevet américain n° 3 435 117. Le brevet anglais n° 1 056 007 suggère également l'incorporation dans la masse de collagène de substances telles que des matières efficaces du point de vue hémostatique comme la fibrine ou la trombine ou antibiotiques comme la chlorotétracycline suivant des quantités allant jusqu'à 10% en poids/poids de la teneur en substances anhydres de la masse de collagène, la congélation de la masse entre -20°C et -70°C et la préparation d'une mousse à partir de celle-ci par lyophilisation.

Les procédés décrits dans les brevets précités pour la préparation de matières absorbantes analogues à des éponges prennent du temps et sont coûteux. La lyophilisation nécessite l'application d'un vide élevé pendant de longues périodes de temps ainsi qu'une entrée d'énergie considérable. Le coût des solvants organiques est également substantiel. Bien que ces matières puissent être récupérées, le procédé de récupération consomme en lui-même de l'énergie et nécessite un équipement onéreux.

On a pensé à un procédé simple et peu coûteux de préparation de telles matières absorbantes analogues à des éponges dans lequel la nécessité des opérations de congélation



et de lyophilisation serait supprimée.

5 L'invention crée un procédé de fabrication de matières absorbantes analogues à des éponges, notamment de matières absorbantes à fibrilles jouant le rôle de matrice dans lequel la congélation ou la lyophilisation est, en général, évitée ou fortement réduite. L'invention se rapporte, de plus, aux complexes de ces matières absorbantes à fibrilles jouant le rôle de matrice avec des médicaments qui sont sous la forme agencée pour l'introduction dans des organismes vivants pour 10 servir en tant que source de médicament ayant une action prolongée.

15 Le procédé de l'invention est avantageusement adapté à la fabrication de matières absorbantes protéiniques à fibrilles jouant le rôle de matrice comme celles fabriquées à partir de collagène ou de gélatine. La mise en oeuvre de l'invention sera illustrée en référence au collagène mais il convient de noter qu'il s'agit seulement d'un exemple et que l'invention n'est pas limitée à cet exemple.

20 Selon un premier aspect de l'invention, on prépare une matrice protéinique absorbante à fibrilles par un procédé qui consiste : (a) à préparer une dispersion de fibres protéiniques gonflées dans une solution aqueuse ou suspension d'une petite quantité d'une gomme naturelle ou synthétique, (b) à ajouter à cette solution ou suspension un agent de tannage ou 25 de réticulation (c) à traiter thermiquement la masse de fibrilles à une température au-dessus de la température de congélation de la solution ou suspension et (d) à séparer l'eau en excès du mélange et à récupérer la matière absorbante à fibrilles. Le procédé ci-dessus présente de nombreux avantages. Tout 30 d'abord les opérations de congélation ou de lyophilisation sont évitées ou fortement réduites car la préparation est mise en oeuvre initialement à des températures au-dessus de la température de congélation de la solution ou suspension bien qu'on puisse ajouter une brève opération de congélation sub- 35 séquente. La matière absorbante protéinique résultante à fibrilles est bien plus économique à produire que les matières fabriquées par les procédés de la technique antérieure. Elle peut être fabriquée sous la forme d'une bande ou feuille continue de n'importe quelle épaisseur ou largeur désirée

et peut être amenée facilement suivant n'importe quelle forme désirée comme des sphères, des cônes, des cylindres ou analogues par moulage ou pressage.

5 Par contraste aux matrices à fibrilles produites par les procédés de lyophilisation, les produits de l'invention sont capables de fixer les agents thérapeutiques solubles dans l'eau, les médicaments ou les substances efficaces du point de vue hémostatique. Selon des quantités essentiellement supérieures à 10% en poids. En outre, les produits de l'in-  
10 vention sont capables de fixer des produits pharmaceutiques et d'autres agents qui sont insolubles ou difficilement solubles dans l'eau comme, par exemple, les hormones stéroïdes, les prostaglandines, les vitamines solubles dans les graisses, les agents anti-trichomonas, les agents anti-fongiques ou les  
15 vaccins.

Les complexes résultants ou combinaisons produit pharmaceutique-matrice absorbante à fibrilles, peuvent être insérés dans les cavités corporelles ou peuvent être implantés par voie sous-cutanée ou dans les cavités corporelles pour  
20 fournir un effet pharmacologique prolongé. Ceci peut entraîner un effet thérapeutique amélioré et des économies d'argent importantes pour un patient comparativement à l'administration journalière classique du même produit pharmaceutique sous la forme de comprimés ou d'injections, par exemple.

25 La matrice absorbante à fibrilles avec ou sans médicaments incorporés ou analogues, fournit également une matière absorbante peu coûteuse adaptée pour être utilisée dans les processus chirurgicaux.

30 La matière protéinique appropriée pour la préparation de matières absorbantes à fibrilles jouant le rôle de matrice conformément à l'invention, comprend, par exemple du collagène ou de la gélatine. Le collagène est une protéine ayant un poids moléculaire de l'ordre de 300 000. La gélatine est un collagène dénaturé à la chaleur, une protéine de poids molé-  
35 culaire élevé extraite de la peau, des ligaments, des os etc...

Le collagène peut être obtenu soit par un traitement alcalin, soit par un traitement acide de la matière de départ. Pour l'invention, on préfère utiliser des fibrilles de collagène gonflé à l'acide ayant un diamètre compris dans la gamme

de 5000 à 90 000 Å. La production de collagène gonflé à l'acide à partir de sources appropriées riches en collagène comme les tissus des animaux, les peaux de poissons, les os et analogues est bien connue. L'interaction du collagène gonflé avec les produits pharmaceutiques se déroule de façon optimale car les produits pharmaceutiques ont un meilleur accès aux groupements réactifs du collagène. Le collagène gonflé acquiert également un degré élevé de solubilité dans l'eau ou pouvoir de dispersion comme résultat de l'opération de gonflement.

Un procédé général pour accomplir le gonflement du collagène qui est avantageusement utilisé dans la mise en oeuvre de l'invention, consiste à traiter une source de collagène comme la peau d'un veau avec un agent d'extraction aqueux comme une solution d'acide acétique à 0,1% pendant une période de l'ordre de 24 heures, et à purifier ensuite l'extrait.

Cette purification du collagène utilisant la dialyse ou extraction du sel est décrite à la page 210 de l'ouvrage "Chemistry of Collagen" édité par G.N. Ramachandran (Academic Press, New-York 1967).

Le collagène fortement gonflé très soluble ainsi obtenu peut servir en tant que constituant du complexe produit pharmaceutique-collagène préparé par la suite. La grandeur de l'interaction du collagène avec un produit pharmaceutique donné peut être augmentée par un gonflement accru ou en éliminant de la structure du collagène des composés ou des groupements qui bloquent ou qui masquent les groupements réactifs appropriés du collagène. Une libération des groupements réactifs du collagène peut être obtenue par plusieurs procédés comprenant le traitement par des enzymes par l'action de solutions d'agents lyotropiques comme du perchlorate de sodium ou de l'iodure de sodium concentré ou en séparant avantageusement le collagène des protéines non collagèneuses par dissolution des protéines non collagèneuses dans des solutions concentrées de chlorure de sodium comme, par exemple, des solutions 10M. A cette concentration, les précipités de collagène et les protéines non collagèneuses peuvent être extraits. Une extraction répétée conduit à une préparation de collagène extrêmement pure. Dans le procédé de l'invention, ce traitement peut être utilisé en liaison avec le pH acide du traitement de gonflement.



Conformément au premier stade du procédé de l'invention, le collagène est dispersé dans une solution ou suspension aqueuse d'une gomme naturelle ou synthétique. La concentration du collagène dans la dispersion est avantageusement comprise dans la gamme de l'ordre de 0,1% à environ 3%, calculée sur le poids sec.

Les gommes naturelles qui sont appropriées comprennent, par exemple, les gommes végétales comme l'acacia (gomme arabique), la Karaya, la gomme adragante, la caroube, l'agar et les gommes guar qui sont solubles ou susceptibles d'être dispersées dans l'eau. Les matières semi-synthétiques ayant des propriétés analogues comme la méthylcellulose, la carboxyméthylcellulose ou l'hydroxypropylcellulose, peuvent également être utilisées. De la même façon, on peut employer des gommes synthétiques comme celles vendues sous les dénominations Polymer 1212A, Polymer 705-D-B ou Jaguar plus (Stein, Hall and Co. New-York).

La quantité de gomme végétale ou d'autres gommes qui est utilisée conformément à l'invention pour produire une matière absorbante analogue à une éponge, varie suivant le type de la gomme. Quand le collagène gonflé est la matière à fibrilles jouant le rôle de matrice, la gomme est utilisée selon des quantités suffisantes pour fournir une concentration finale dans le mélange gomme-collagène de l'ordre de 0,01% à environ 5% en poids, notamment d'environ 0,05% à environ 0,5% en poids.

On a trouvé que la présence de la gomme joue un rôle important pour améliorer les propriétés physiques du produit analogue à une éponge, notamment celui de former une masse cohérente. L'expérience a montré que lorsque la gomme est omise, aucune éponge n'est formée et les fibrilles de collagène se désintègrent simplement.

Selon une variante de l'invention, le collagène ou une autre matière protéinique, peut tout d'abord être dispersé dans l'eau et cette dispersion peut être mélangée avec une solution aqueuse ou dispersion de la gomme mais l'addition de collagène directement à la solution ou dispersion de gomme, comme décrit ci-dessus, est préférée.

Conformément au deuxième stade du procédé de l'invention, on ajoute à la dispersion gomme-collagène, un agent de durcissement, un agent de tannage ou un agent de réticulation.

De préférence, un tel agent de réticulation est un agent renfermant un groupement aldéhyde. Des aldéhydes appropriés sont représentés par les aldéhydes acycliques comme, par exemple, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde, le glutaraldéhyde, le pyruvaldéhyde (méthyl-glyoxal), le glyoxal et analogue. On peut également utiliser des agents de durcissement du type amine comme la triméthylolamine et des anhydrides d'acides dicarboxyliques comme l'anhydride maléique. Une combinaison de deux ou plusieurs agents de durcissement, peut être utilisée avantageusement. Par exemple, un mélange de formaldéhyde et d'anhydride maléique est très efficace. Les agents de réticulation sont employés selon les mêmes proportions que la gomme à savoir suivant une quantité comprise entre environ 0,02% et 5% en poids.

15 Pour certains produits, il peut être désirable d'incorporer diverses charges pour améliorer la résistance et l'aspect final. Des charges appropriées comprennent divers produits naturels comme la cellulose, de préférence, la pâte de bois, de la cellulose traitée chimiquement comme du Sephadex  
20 ou de l'Avicel (aggrégats de cellulose microcristalline), du coton, des fibres de soie ou diverses fibres synthétiques y compris des polyamides linéaires comme le nylon et des fibres polyester comme le dacron, l'orlon, etc.. Si on le désire, on peut également ajouter des agents de ramollissement comme le  
25 glycérol, le propylène-glycol ou analogue. En général, la quantité de ces additifs dépend de la nature du produit final. Des matières inertes comme par exemple la pulpe de cellulose, peuvent également être ajoutées selon des quantités aussi importantes que 30% en poids ou plus sans altérer ou détruire  
30 la structure de l'éponge collagène formée.

Avantageusement, une suspension aqueuse du collagène gonflé à l'acide, est dispersée dans une solution aqueuse d'une gomme végétale ou d'une autre gomme de la concentration désirée. La quantité souhaitée de l'agent de réticulation, de  
35 l'agent de tannage ou de l'agent de durcissement est ensuite ajoutée. Le pH de la suspension résultante est réglé selon les caractéristiques désirées du produit final, habituellement dans une gamme d'environ 5 à environ 8. Ainsi, une suspension ayant un pH acide, par exemple de l'ordre de 5 à 6,5 fournit

un produit final dense ressemblant à un feutre. Ce produit est particulièrement bien approprié pour former un complexe collagène-produit pharmaceutique conçu pour l'insertion ou l'implantation quand une action à longue durée est désirée.

5 Pour produire une éponge fortement absorbante, le pH de la suspension est, de préférence, réglé dans une gamme neutre c'est-à-dire de l'ordre de 6,5 à 7,5. On peut employer un pH plus alcalin quand on désire produire une matrice absorbante ressemblant à de la pâte.

10 Comme mentionné précédemment, une charge peut être incorporée. La masse est ensuite agitée vigoureusement pour produire une mousse. Cette agitation peut être réalisée avec n'importe quel appareil convenable tel que, par exemple, un mélangeur Waring à vitesse élevée.

15 Conformément au stade suivant du procédé de l'invention, la masse à fibrilles obtenue comme décrit ci-dessus, reçoit un traitement thermique à une température supérieure à la température de congélation de la solution ou suspension, habituellement d'environ 0°C et, de préférence, à une température comprise entre environ 0°C et 7°C. La durée du traitement thermique varie selon la quantité d'agent de réticulation utilisée et est habituellement de l'ordre de 1 à 7 jours. Cependant, on a trouvé qu'un produit ayant des propriétés améliorées est obtenu, en utilisant une opération subséquente de  
20 maintien du produit à une température en-dessous de la congélation pendant une période supplémentaire de quelques heures à quelques jours. Ainsi, le produit après le traitement thermique initial à une température supérieure à la congélation est maintenu pendant 6 heures à 3 jours à une température de  
25 l'ordre de 0°C à environ -8°C. Cependant, il convient de remarquer que cette opération de congélation supplémentaire n'est pas réalisée nécessairement.

Après l'opération de traitement thermique, l'eau en excès est séparée mécaniquement du mélange comme par compression  
35 ou filtration et le produit est lavé avec de l'eau et séché si on le désire.

Conformément à un deuxième aspect de l'invention, on a trouvé que les produits pharmaceutiques notamment les médicaments, les vitamines et analogues, qui sont essentielle-

ment insolubles dans l'eau, peuvent être combinés avec du collagène (ou gélatine) qui a été convenablement conditionné au préalable comme décrit précédemment, pour produire un complexe produit pharmaceutique-collagène ayant des propriétés de dégagement lent. Bien que le principe de l'invention soit illustré en regard de produits pharmaceutiques et analogues de faible solubilité dans l'eau ou insolubles dans l'eau, il convient de noter qu'il est également applicable à des produits pharmaceutiques solubles dans l'eau.

La combinaison produit pharmaceutique-collagène de l'invention est obtenue par le procédé impliquant deux stades essentiels, à savoir : (1) que le collagène soit tout d'abord soumis à un traitement qui provoque qu'il soit fortement gonflé en formant une matrice à fibrilles et réparti dans un milieu aqueux pour que les groupements réactifs du collagène soient plus facilement accessibles aux produits pharmaceutiques et (2) que le produit pharmaceutique soit mis en contact avec le collagène gonflé sous la forme d'une solution dans un solvant organique miscible dans l'eau qui est capable de dissoudre le produit pharmaceutique mais qui ne réagit pas avec le collagène ni ne dissout celui-ci. De cette façon, le produit pharmaceutique dissous dans le solvant organique, est transporté dans la phase de collagène pour former le complexe désiré.

Pour la formation d'un complexe collagène-produit pharmaceutique suivant l'invention, on préfère un gonflement sous des conditions acides.

Selon l'invention, le collagène fortement gonflé dans un milieu aqueux, est traité avec une solution du produit pharmaceutique dans un solvant organique miscible dans l'eau qui est inerte au collagène. Sans être lié par une quelconque théorie, on suppose que le mélange du collagène gonflé à la solution de solvant organique du produit pharmaceutique, établit lentement un équilibre entre l'eau, le collagène gonflé et la phase de solvant organique. Le produit pharmaceutique est transporté dans la structure du collagène gonflé où il est fixé du fait de la différence importante dans la capacité de fixation et de solubilité dans la phase de solvant organique dilué par l'eau.

N'importe quel solvant organique miscible dans l'eau

qui est inerte vis-à-vis du collagène et qui ne le dissout pas peut être utilisé dans la mise en oeuvre de l'invention. Parmi les classes de solvants appropriés, on peut mentionner les alcools aliphatiques inférieurs comme l'alcool méthylique, l'alcool éthylique, l'alcool n-propylique et l'alcool isopropylique, les glycols solubles dans l'eau comme d'éthylèneglycol, le propylèneglycol, les éthers solubles dans l'eau tels que le dioxane et les cétones de faible poids moléculaire comme l'acétone et la méthyl-éthyl-cétone. Cependant, on préfère employer l'alcool éthylique ou l'alcool isopropylique en raison de leurs propriétés physiques avantageuses et de leur faible toxicité connue.

La concentration des produits pharmaceutiques devant être utilisés dans le solvant organique, varie fortement en fonction du choix du produit pharmaceutique et du solvant. La proportion de la phase solvant organique-produit pharmaceutique devant être ajoutée à la phase aqueuse-collagène afin d'obtenir un dépôt convenable du produit pharmaceutique à partir du solvant organique dans la phase de collagène, est fonction du coefficient de répartition du produit pharmaceutique entre les deux phases et est importante. Elle est réglée afin que la concentration finale du solvant organique dans la phase aqueuse-collagène, soit comprise entre environ 5% et 25% en poids, notamment entre environ 10% et 15% en poids.

Toutefois, il n'est pas nécessaire que le produit pharmaceutique soit complètement dissout. On a trouvé, conformément à l'invention, que le produit pharmaceutique peut être ajouté à la suspension de collagène sous la forme d'une suspension aqueuse. Il peut alors être souhaitable d'attendre plusieurs heures avant d'ajouter l'agent de réticulation. Ce processus assure une fixation optimale du produit pharmaceutique au collagène avant le tannage ou la réticulation et au moment de la préparation de la matrice absorbante à fibrilles elle-même.

Un avantage du procédé de l'invention réside en ce qu'il rend possible de préparer des complexes collagène-produit pharmaceutique contenant plus de 10% en poids de produits pharmaceutiques solubles dans l'eau. Ceci est particulièrement important quand on désire, par exemple, utiliser des antibio-



tiques pour avoir des effets de longue durée. Parmi les antibiotiques qui sont capables de former des complexes avec le collagène, on peut mentionner, à titre d'exemple, la tétracycline, la penicilline, l'ampicilline, etc...

5 Le procédé de l'invention peut également être utilisé pour produire des combinaisons de collagène dans lesquelles des composés de métaux à l'état de traces comme du cobalt ou du cuivre, sont fixés et qui peuvent être implantés dans des animaux domestiques pour avoir un effet de longue durée pour pallier  
10 à la déficience naturelle de ces métaux à l'état de traces lorsqu'elle existe.

On obtient notamment des produits de valeur en fixant des vaccins au collagène selon l'invention. Ainsi, par exemple, il est possible de préparer un complexe collagène-vaccin qui  
15 procure une immunité aux animaux traités avec celui-ci, pendant une période double de celle lorsqu'on a recours à l'administration de vaccins classiques.

Diverses protéines, polypeptides ou substances actives par chimiothérapie, peuvent également être combinées avec du  
20 collagène selon l'invention. Il s'agit, par exemple, des hormones trophiques de la glande pituitaire comme l'hormone de croissance, la thyrotropine, les gonadotropines et les hormones de l'hypothalamus comme l'hormone libérant des substances lutéinisantes, les prostaglandines comme la prostaglandine  $E_1$  ou  $F_{2\alpha}$  qui sont  
25 des agents de valeur pour induire l'avortement. Des esters solubles dans l'eau d'hormones stéroïdes comme, par exemple, le sel de sodium du sulfate de 3-oestradiol, peuvent également être utilisés.

Un autre avantage du procédé de l'invention est qu'il  
30 rend possible de préparer des complexes de collagène avec des produits pharmaceutiques qui sont seulement faiblement solubles ou insolubles dans l'eau. Ces composés comprennent, par exemple, les hormones stéroïdes comme la testostérone, l'oestradiol, l'oestriol, la progestérone ou le cortisol. Des hormones pro-  
35 gestatives synthétiques comme, par exemple, la noréthindrone, le norgestrel, le diacétate d'éthynodiol ou l'acétate de mégestrol, peuvent également être utilisées. Les hormones stéroïdes fixées au collagène, fournissent des effets de valeur agissant à longue durée. Ainsi, par exemple, un complexe collagène-pro-

gestérone fournit un effet d'anti-fertilité lorsqu'il est implanté par voie sous-cutanée ou lorsqu'il est inséré dans l'utérus. Un complexe de collagène et d'oestradiol ou d'oestriol, réalisé avantageusement sous la forme d'un tampon, est approprié pour le traitement d'une vaginite sénile lorsqu'il est inséré dans le vagin car les effets systémiques indésirables de l'oestrogène sont réduits.

Conformément au procédé de l'invention, il est possible de fixer plus d'un produit pharmaceutique au collagène. Ainsi, à titre d'exemple, on obtient un produit de valeur en fixant au collagène un produit pharmaceutique anti-trichomonas comme le métronidazole, un agent anti-fongique comme la nystatine antibiotique et un agent anti-bactérien comme un des sulfonamides. Le complexe résultant collagène-plusieurs produits pharmaceutiques, quand il est sous la forme d'un tampon, est particulièrement approprié pour le traitement d'infections vaginales, car il dégage les ingrédients actifs et agit comme une éponge absorbante en même temps.

Des exemples supplémentaires de produits pharmaceutiques qui peuvent être fixés au collagène selon l'invention pour fournir une préparation à longue action, sont représentés par les divers agents anti-helminthiques et anti-tiques utilisés dans l'art vétérinaire.

Les exemples suivants illustrent de façon non limitative la mise en oeuvre de l'invention.

#### Préparation de l'éponge collagène

##### Exemple 1

On utilise deux litres de suspension de collagène gonflé à l'acide, refroidie à environ 5°C, renfermant 1,5% en poids de matière anhydre. On ajoute suffisamment de gomme d'acacia pour avoir une concentration finale de 0,25% en poids. La suspension est neutralisée à environ pH 7,0 par addition de 20 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium 2N. On incorpore ensuite 15 ml de solution aqueuse à 40% de formaldéhyde et la masse est agitée rapidement pendant environ 10 secondes. Le produit analogue à une mousse est versé dans des plateaux en acier inoxydable et amené à subir un traitement thermique

pendant sept jours à 2°C. Il est ensuite retiré du réfrigérateur, l'eau en excès est éliminée mécaniquement, l'éponge est lavée à l'eau de ville et séchée. L'éponge résultante montre des propriétés d'absorption élevées.

5

Exemple 2

On répète l'exemple 1 sauf qu'à la place du formaldéhyde, on utilise 20 ml d'une solution aqueuse à 25% de glutaraldéhyde. L'éponge résultante montre des propriétés d'absorption analogues à l'éponge produite selon le procédé décrit à l'exemple 1.

10

Exemple 3

On répète l'exemple 1 sauf qu'on utilise pour élever le pH à environ 8,5, une quantité supplémentaire de solution d'hydroxyde de sodium 2N. En utilisant ce procédé, on obtient une matière ressemblant à une pâte plucheuse qui est environ deux fois aussi absorbante que la pâte à papier disponible dans le commerce.

15

Exemple 4

On mélange 100 ml de suspension de collagène gonflé à l'acide avec suffisamment de solution aqueuse à 3% de gomme d'acacia pour avoir une concentration finale de 0,01% et on ajoute suffisamment de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N pour régler le pH de la solution à environ 5. La suspension est mélangée, versée sur un plateau pour former une couche d'une épaisseur de l'ordre de 1 cm et refroidie dans un compartiment de congélation pendant 8 heures. Le plateau est conservé ensuite pendant 3 jours à +5°C. L'eau en excès est éliminée, le produit résultant est lavé dans de l'eau de ville et séché. On forme une membrane analogue à du parchemin et on trouve qu'elle est appropriée en tant que produit de substitution de la peau artificielle ou pour la dialyse.

20

25

30

Exemple 5

On mélange 100 ml de suspension de collagène gonflé à l'acide renfermant 3% en poids de matière anhydre avec 100 ml de solution aqueuse à 0,1% de gomme d'acacia, le pH de la suspension est réglé avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N à environ 8 en utilisant comme indicateur du rouge

35

de crésol et la suspension est malaxée dans un mélangeur Warin  
à la consistance d'une mousse. On prépare un autre échantillon  
d'une manière analogue sauf qu'à la place de la solution de  
gomme d'acacia, on utilise seulement de l'eau de ville. Les  
5 deux échantillons sont versés sur des plateaux en acier inoxy-  
dable, placés dans un compartiment de congélation pendant 6  
heures et maintenues ensuite à +4°C pendant 2 jours.

On note que l'échantillon contenant la gomme d'acacia  
forme une éponge qui absorbe vingt six fois son propre poids  
10 dans l'eau. Il n'y a pas de formation d'éponge à partir de la  
matière à laquelle seule de l'eau de ville est ajoutée.

#### Exemple 6

On prépare comme décrit à l'exemple 5, sauf que le  
15 pH final est réglé à environ 7, quatre échantillons de suspen-  
sion de collagène renfermant chacun 0,05% de gomme d'acacia  
(gomme arabique) et quatre échantillons de suspension de colla-  
gène contenant seulement de l'eau de ville (témoins). Tous les  
échantillons sont maintenus à environ -8°C pendant 24 heures  
20 et ensuite à +5°C pendant 2,3 ou 7 jours comme indiqué ci-  
après au tableau suivant. L'eau en excès est éliminée subsé-  
quemment et la matière spongieuse est séchée. On réalise les  
mesures physiques suivantes :

Porosité : On découpe une section circulaire de  
25 même diamètre, on mesure l'épaisseur moyenne de chaque échan-  
tillon et on détermine le poids. L'indice de porosité IP  
s'exprime de la façon suivante :

$$IP = \frac{\text{épaisseur en mm} \times 100}{\text{poids sec en mg}}$$

Pouvoir d'absorption : Un échantillon d'éponge colla-  
30 gène de poids connu est immergé dans l'eau pendant une minute,  
l'eau en excès est éliminée et le poids de l'éponge humide  
est déterminé.

Le pouvoir d'absorption est exprimé par :

35

$$\frac{\text{poids de l'éponge humide, mg}}{\text{poids de l'éponge sèche, mg}}$$

#### Résultats

Les résultats des mesures ci-dessus sont indiqués  
au tableau suivant :

|   | Jours de réfrigération | IP | Pouvoir d'absorption |
|---|------------------------|----|----------------------|
| 5 | Acacia                 | 2  | 2,9                  |
|   | Témoin                 | 2  | 0,8                  |
|   | Acacia                 | 3  | 3,0                  |
|   | Témoin                 | 3  | 0,7                  |
|   | Acacia                 | 7  | 7,3                  |
|   | Témoin                 | 7  | 0,9                  |

10 Les résultats de l'étude ci-dessus montrent que l'addition de gomme d'acacia entraîne dans tous les cas une éponge absorbante plus poreuse.

#### Exemple 7

15 On répète l'exemple 6, comme décrit plus haut, sauf que l'échantillon renfermant de la gomme d'acacia et l'échantillon témoin sont maintenus à environ -10°C pendant 5 jours. L'échantillon contenant la gomme d'acacia montre les propriétés suivantes : IP = 7,7, pouvoir d'absorption = 71. Un échantillon témoin (sans acacia) présente les propriétés ci-après : IP = 3,5, 20 pouvoir d'absorption = 26. Les résultats indiquent que l'addition de gomme d'acacia a amélioré les propriétés de l'éponge formée.

#### Exemple 8

25 On prépare plusieurs échantillons renfermant des quantités variables d'acacia ou de méthylcellulose ajoutée dans des solutions aqueuses. Les échantillons sont maintenus congelés pendant 7 jours et sont ensuite éprouvés comme décrit à l'exemple 6. Les résultats sont les suivants, à savoir :

|    | Gomme, concentration finale % | IP   | Pouvoir d'absorption |
|----|-------------------------------|------|----------------------|
| 30 | <u>Acacia</u>                 |      |                      |
|    | 1                             | 15   | 28                   |
|    | 0,5                           | 11   | 43                   |
|    | 0,05                          | 10   | 53                   |
|    | 0,025                         | 7    | 40                   |
| 35 | <u>Méthylcellulose</u>        |      |                      |
|    | 0,5                           | 3,4  | 18                   |
|    | 0,25                          | 7,7  | 39                   |
|    | 0,05                          | 10,0 | 43                   |



Exemple 9

On répète l'exemple 1 sauf qu'on utilise de la méthylcellulose pour avoir une concentration finale de 0,01%. L'éponge résultante est fortement absorbée, le pouvoir d'absorption est de 22.

5

Préparation de Complexes collagènes-produit pharmaceutiqueExemple 10

On mélange 50 ml de suspension de collagène à 2% (c'est-à-dire une suspension renfermant 2% en poids de matière anhydre) refroidie à +5°C avec 25 ml de solution de progestérone obtenue en dissolvant 10 mg de progestérone 14C (activité spécifique 70 décompositions par minute par gramme) dans 1 ml de propylène glycol et en ajoutant, tout en agitant, 24 ml d'eau. Le mélange est maintenu à 5°C pendant 6 heures. On règle ensuite le pH de la solution à environ 6,5 avec une solution d'hydroxyde de sodium 2N. On ajoute 0,5 ml d'une solution aqueuse à 40% de formaldéhyde, le mélange est malaxé dans un mélangeur Waring pendant 15 secondes et la matière mousseuse résultante est versée sur un plateau et maintenue à 2°C pendant 5 jours. Après 5 jours une partie aliquote de l'eau en excès est prélevée pour déterminer la radioactivité par comptage dans un spectrophotomètre à scintillation pour liquide. La quantité de radioactivité présente est négligeable, ce qui indique que toute la progestérone a été fixée au collagène. L'alcali en excès de la matière résultante est éliminé par dialyse.

La matière ainsi obtenue ressemblant à du feutre est découpée en dix petits morceaux de dimension égale. La matrice collagène-progestérone est implantée par voie sous-cutanée chez six rats, chaque animal recevant une seule partie et les animaux sont sacrifiés six semaines plus tard. La perte de matrice collagène-progestérone déterminée par la perte de poids est calculée comme étant en moyenne de 15%. Ceci signifie qu'une telle matrice collagène-progestérone peut avoir un effet biologique durant d'environ 35 à 40 semaines.

35

Exemple 11

On mélange 100 ml de suspension de collagène à 2% avec 100 ml de suspension de testostérone dans l'eau (2 mg/ml). On ajoute assez de solution diluée d'hydroxyde de sodium pour régler

- le pH à environ 7 et le mélange est maintenu à environ 5°C pendant 24 heures. On incorpore ensuite 0,4 ml de solution aqueuse à 40% de formaldéhyde, le mélange est malaxé dans un mélangeur Waring et traité thermiquement pendant 7 jours à 1°C. Subséquentement, la liqueur surnageante est éprouvée pour la testostérone en mesurant le pouvoir d'absorption à 240 m $\mu$ . Les résultats de ces mesures indiquent que pratiquement toute la testostérone est fixée au collagène.

#### Exemple 12

- On répète l'essai ci-dessus sauf qu'on utilise une solution de chlorhydrate de tétracycline selon une concentration de 6 mg/ml. Les mesures sur la tétracycline dans la liqueur surnageante indiquent qu'environ 85% de la tétracycline sont fixés au collagène. Les résultats ci-dessus montrent qu'en utilisant les conditions mentionnées plus haut, 2g de collagène fixent environ 500 mg de tétracycline ou 25% en poids.

#### Exemple 13

- On réalise une éponge collagène absorbante, comme décrit à l'exemple 10, sauf que les produits pharmaceutiques suivants sont utilisés par gramme de collagène : métronidazole, 250 mg; mystatine, 100 000 unités et un mélange de trois sulfonamides (sulfathiazole, 34,2%; sulfamide, 28,4% et N-benzoylsulfamide, 37,4%), 200 mg. Le mélange après le formaldéhyde est ajouté et versé sur des formes tubulaires d'un diamètre de l'ordre de 2,54 cm et d'une longueur de 6,35 cm. Après le traitement thermique, les cylindres résultants sont appropriés pour le traitement des infections vaginales.

#### Exemple 14

- On mélange 100 ml de collagène gonflé à l'acide (2% de poids sec) avec 400 mg de chlorhydrate de tétracycline, dissous dans 100 ml d'eau contenant 50 mg de gomme d'acacia, 0,33 ml de solution aqueuse à 40% de formaldéhyde et 0,7 ml de solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 2N. Le mélange est maintenu pendant 24 heures à +3°C, puis est amené sous la forme d'une mousse dans un mélangeur Waring et est conservé à -8°C pendant 3 jours. L'éponge résultante montre des propriétés d'absorption et se révèle être utile pour traiter des infections dans les cavités corporelles.

Exemple 15

On réalise une éponge collagène absorbante, comme décrit à l'exemple 13, sauf qu'on utilise 40 mg de prostaglandine E<sub>2</sub> par gramme de collagène. On trouve que l'éponge résultante produit une dilatation du cervix quand elle est insérée dans le vagin.

Exemple 16

On réalise une éponge collagène absorbante, comme décrit à l'exemple 13, sauf qu'on utilise 400 mg de dithizone (α-phénylthiocarbazone) par gramme de collagène. On trouve que l'éponge résultante empêche les animaux de mettre bas quand elle est insérée dans l'utérus.

Exemple 17

On répète l'exemple 4 sauf que suffisamment de solution concentrée de nitrate d'argent est ajoutée pour avoir une concentration finale de 0,5 % d'argent, calculée sur le poids sec du collagène. La matière résultante se révèle être utile pour le traitement topique des brûlures.

Exemple 18

On répète l'exemple 13 sauf qu'on ajoute suffisamment de fluocinolone acétonide (6α, 9α-difluoro-11β, 16α, 17α, 21-tétrahydroxy-1,4-prégnadiène-3,20-dione-16,17-acétonide) pour avoir une concentration finale de 0,025% calculée sur le poids sec de collagène et le pH de la solution est réglé à environ 5,5. L'éponge résultante analogue à du feutre se révèle être utile pour traiter des inflammations de la peau.

REVENDICATIONS

1 - Procédé de fabrication d'une matière absorbante protéinique à fibrilles analogue à une éponge jouant le rôle de matrice, caractérisé en ce qu'il consiste :

5 (a) à préparer une dispersion protéinique de fibres gonflées dans une solution aqueuse ou suspension d'une petite quantité d'une gomme naturelle ou synthétique,

(b) à ajouter à cette solution ou suspension un agent de tannage ou de réticulation,

10 (c) à traiter thermiquement la masse de fibrilles à une température au-dessus de la température de congélation de la solution ou suspension, et

(d) à séparer l'eau en excès du mélange et à récupérer la matière absorbante à fibrilles jouant le rôle de matrice.

15 2 - Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que la matière à fibrilles jouant le rôle de matrice est du collagène.

3 - Procédé suivant l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que le collagène est du collagène gonflé à l'acide.

20 4 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la concentration de la matière protéinique à fibrilles dans la dispersion est comprise entre environ 0,1% et environ 3%, calculés sur un poids sec.

25 5 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que la gomme naturelle est une gomme végétale.

6 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la gomme végétale est de la gomme d'acacia.

30 7 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la concentration de la gomme dans la dispersion est comprise entre environ 0,01% et environ 5% en poids.

8 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que la matière protéinique à fibrilles jouant le rôle de matrice est tout d'abord dispersée dans l'eau et  
35 cette dispersion est ajoutée à la dispersion de gomme.

9 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'agent de tannage ou de réticulation est un aldéhyde.

10 - Procédé suivant l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il comprend une période supplémentaire de traitement thermique pendant environ 6 heures à 3 jours à une température inférieure à la congélation.

5 11 - Procédé de fabrication d'un complexe d'un produit pharmaceutique et d'une matière protéinique absorbante à fibrilles jouant le rôle de matrice, ayant une activité prolongée, caractérisé en ce qu'il consiste à mélanger une matière gonflée à fibrilles jouant le rôle de matrice préparée selon la revendication 1, répartie dans un milieu aqueux avec une solution  
10 du produit pharmaceutique dans un solvant organique miscible dans l'eau qui est un solvant pour le produit pharmaceutique mais qui ne réagit pas ni ne dissout la matière à fibrilles jouant le rôle de matrice pendant une période de temps suffisante pour permettre au produit pharmaceutique d'être fixé à la  
15 matière jouant le rôle de matrice et de se dégager seulement lentement de celle-ci.

20 12 - Procédé suivant la revendication 11, caractérisé en ce que la matière à fibrilles jouant le rôle de matrice est du collagène.

13 - Procédé suivant l'une des revendications 11 et 12, caractérisé en ce que le solvant est un alcoyl aliphatique inférieur.

25 14 - Procédé suivant l'une des revendications 11 à 13, caractérisé en ce que la proportion de solvant organique dans le mélange de solution ou produit pharmaceutique et de suspension aqueuse de matière à fibrilles jouant le rôle de matrice est comprise dans la gamme d'environ 5% à 25% en poids.

30 15 - Procédé suivant l'une des revendications 11 à 14, caractérisé en ce que le mélange de solution de produit pharmaceutique avec la suspension de fibrilles se produit avant l'addition d'un agent de réticulation ou d'un agent de tannage.

35 16 - Procédé suivant l'une des revendications 11 à 15, caractérisé en ce que le produit pharmaceutique est un produit pharmaceutique soluble dans l'eau et est présent sous une forme fixée selon une quantité supérieure à environ 10% en poids.

17 - Procédé suivant l'une des revendications 11 à 16, caractérisé en ce que le produit pharmaceutique est une hormone stéroïde.



18 - Procédé suivant l'une des revendications 11 à 17, caractérisé en ce que la matière à fibrilles jouant le rôle de matrice est du collagène et le produit pharmaceutique est une hormone progestative.